



# **CARBOXIMALTOSA FÉRRICA EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA PREDIÁLISIS: FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA Y EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN, MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y METABOLISMO MINERAL ÓSEO.**

**Merche Prats Valencia**

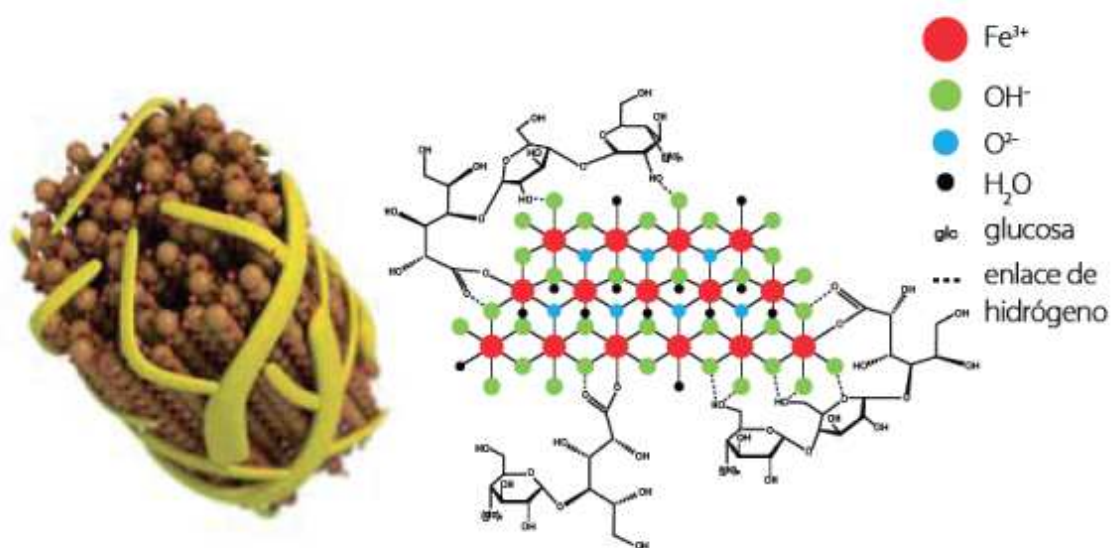
**Dipòsit Legal: T 316-2016**

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

**CARBOXIMALTOSA FÉRRICA EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA EN  
PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA PREDIÁLISIS:  
FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA Y  
EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN, MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y  
METABOLISMO MINERAL ÓSEO.**



TESIS DOCTORAL  
Merche Prats Valencia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
Departament de Medicina i Cirurgia

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

CARBOXIMALTOSA FÉRRICA EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA PREDIÁLISIS:

FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA Y EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN, MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y METABOLISMO MINERAL ÓSEO.

Merche Prats Valencia

Dipòsit Legal: T 316-2016

**CARBOXIMALTOSA FÉRRICA EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA EN  
PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA PREDIÁLISIS:  
FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA Y  
EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN, MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y  
METABOLISMO MINERAL ÓSEO.**

Memoria presentada por Merche Prats Valencia para optar al grado de Doctor.

**Director:** Alberto Martinez Veja



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
Departament de Medicina i Cirurgia  
Tarragona, 2015



UNIVERSITAT  
ROVIRA I VIRGILI

HAGO CONSTAR que el presente trabajo, titulado “Carboximaltosa férrica en el tratamiento de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica prediálisis: factores predictores de respuesta y efecto sobre la inflamación, moléculas de adhesión y metabolismo mineral óseo”, que presenta Merche Prats Valencia para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departament de Medicina i Cirurgia de esta universidad

Tarragona, 23 noviembre de 2015

El director de la tesis doctoral

Dr. Alberto Martinez-Vea

## Agradecimientos

Mi primer agradecimiento es para mi Director de tesis, el Dr. Martinez Veja. Quiero agradecerle su tiempo, dedicación, paciencia e implicación en mi formación como médico y como persona. “Moltes gràcies jefe”

Quiero agradecer a mi servicio la colaboración en la inclusión de pacientes para el estudio y a Susana Abejaro y Yolanda Benito por su excelente trabajo tanto a nivel asistencial, como de coordinación y recogida de datos ; al Dr. Manel Jarrod, de Sistemas de Información del Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII, por el análisis estadístico de la presente tesis; a las Dras Marta Romeu i Montse Giralt de la Unidad de Farmacología del Departamento de Ciencias Médicas Básicas ( Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universitat Rovira i Virgili, Reus- Tarragona) por la determinación de los marcadores de oxidación y moléculas de adhesión analizadas en la presente tesis. Agradecer a Pilar Budesca su paciencia infinita con todos los trámites administrativos.

Mi mayor agradecimiento es para mi familia, en especial a mis padres, mis hijos y a Ramon.” Gràcies per ser-hi sempre.Us estimo molt!”

## Abreviaturas

**1,25-vitD:** calcitriol  
**AEE:** Agentes estimuladores de la eritropoyesis  
**CMF:** Carboximaltosa férrica  
**DAH:** Déficit absoluto de hierro  
**DFH:** Déficit funcional de hierro  
**DH:** Déficit de hierro  
**EPO:** Eritropoyetina  
**ERC:** Enfermedad renal crónica  
**EV:** Endovenoso  
**FG:** Filtrado glomerular  
**FGF23:** Fibroblast growth factor 23  
**GPXe:** Glutation peroxidasa eritrocitaria  
**Hb:** Hemoglobina  
**IL6:** Interleuquina 6  
**IST:** Índice de saturación de la transferrina  
**LDL-ox:** lipoproteína de baja densidad oxidada  
**PCR:** Proteína C reactiva  
**PTH :** hormona paratiroidea  
**SER:** Sistema retículo-endotelial  
**s-ICAM-1:** molécula-1 de adhesión intercelular soluble  
**s-VCAM-1:** molécula-1 de adhesión vascular soluble  
**SODe:** superóxido dismutasa eritrocitaria  
**Vit D:** Vitamina D  
**VO:** Vía oral

## **Índice de figuras/tablas**

### **Figuras**

1. Foto de Richard Bright
2. Anemia según estadio de ERC
3. Mecanismo etiopatogénico de la anemia
4. Recambio del hierro del organismo
5. Mecanismo de absorción del hierro
6. Acción de la hepcidina
7. Regulación de la expresión de la hepcidina
8. Prevalencia del déficit de hierro
9. Mecanismo de acción del hierro ev
10. a)b) Estructura y tamaño de distintos tipos de hierro
11. Saturación de la transferrina con hierro ev
12. Acciones del FGF23
13. Estructura de la CMF
14. Farmacocinética de la CMF
15. Captación de la CMF
16. Estrés oxidativo/hipersensibilidad del hierro ev
17. Efecto de la CMF

### **Tablas**

1. Comparativa hierro oral vs endovenoso
2. Tipos de hierro endovenoso



## Índice

- Agradecimientos.....	i
- Abreviaturas.....	ii
- Índice de figuras/tablas.....	iii
- Introducción.....	1-20
1. Anemia y enfermedad renal crónica	
1.1 Introducción	
1.2 Etiopatogenia	
1.3 Metabolismo del hierro	
1.3.1 Regulación de la homeostasis del hierro	
1.3.2 Déficit de hierro	
1.4 Factor de riesgo cardiovascular	
2. Tratamiento del déficit de hierro	
2.1 Objetivo terapéutico	
2.2 Factores predictores de respuesta	
2.3 Terapia férrica	
2.3.1 oral vs endovenosa	
2.3.2 Hierro endovenoso	
- Tipos y mecanismo de acción	
- Efecto sobre la inflamación y moléculas de adhesión	
- Efecto sobre el metabolismo mineral óseo	
3. Carboximaltosa férrica en el tratamiento de la anemia	
3.1 Propiedades físico-químicas	
3.2 Eficacia en pacientes con ERC prediálisis	
- Hipótesis.....	21
- Objetivos.....	22-23
- Material y Métodos.....	24-26

**-Resultados.....27-30**

Estudio 1.....

*“ Oxidative stress markers in predicting response to treatment with ferric carboxymaltose in non-dialysis chronic kidney disease patients”*

Estudio 2.....

*“Efecto agudo y subagudo de la carboximaltosa férrica sobre la inflamación y moléculas de adhesión en pacientes con insuficiencia renal crónica prediálisis”*

Estudio 3.....

*“Effect of ferric carboxymaltose on serum phosphate and C-terminal FGF23 levels in non-dialysis chronic kidney disease patients: post-hoc analysis of a prospective study”*

**- Discusión.....31-37**

**- Conclusiones.....38-39**

**- Referencias.....40-46**

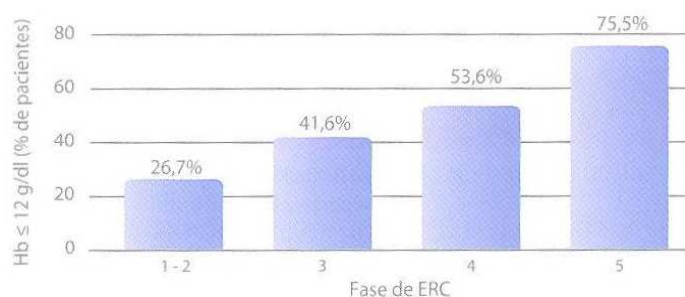
# **Introducción**

## Introducción. Anemia y ERC

### 1. Anemia y enfermedad renal crónica

#### 1.1 Introducción

La anemia fue relacionada por primera vez con la enfermedad renal crónica (ERC) hace casi dos siglos por Richard Bright ( figura 1; 1) ; es una complicación frecuente, se produce de forma temprana y aumenta su prevalencia a medida que progresa la enfermedad renal, afectando a la práctica totalidad de los pacientes con ERC estadio 5 (2). En un estudio realizado en más de 5000 pacientes con ERC, se observó que el 47,7% de los pacientes presentaban anemia (hemoglobina (Hb) <12g/dl), y más de una cuarta parte de pacientes con ERC leve( estadio 1,2) la padecían (figura 2).



**Figura 1. Richard Bright**

**Figura 2. Incidencia de anemia (Hb<12g/dl) en pacientes con ERC no sometidos a diálisis en un estudio multicéntrico realizado en EEUU(n=5222)**

La anemia en la ERC se asocia a una disminución de la calidad de vida y a un aumento de la enfermedad cardiovascular, hospitalizaciones, deterioro cognitivo y mortalidad (3).

La anemia en la ERC es típicamente normocítica, normocrómica e hipoproliferativa. En la década de 1950, tras demostrar que existía un factor circulante estimulador de la eritropoyesis y que el riñón era el principal productor de eritropoyetina (EPO), se originó la hipótesis que el déficit de EPO era la principal causa de la anemia de la ERC. En la década de los 80 se introdujo la EPO recombinante humana, lo que supuso una revolución en el manejo de la anemia. Con el uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis (AEE), los pacientes fueron liberados de la dependencia de las transfusiones sanguíneas y sus complicaciones (secundarias al acúmulo de hierro, infecciones, sensibilizaciones para los trasplantes). No obstante, los AEE no estaban exentos de efectos secundarios (hipertensión arterial, trombosis de los accesos vasculares..) y tampoco han reducido los eventos adversos asociados a la anemia , como mortalidad, hipertrofia ventricular izquierda, hospitalizaciones y progresión de la ERC(3). Recientes estudios tanto en pacientes en hemodiálisis o pacientes en prediálisis demuestran un riesgo incrementado de muerte, eventos cardiovasculares y accidente vascular cerebral con el uso de AEE con objetivos de Hb >11g/dl (4,5), así como un aumento de progresión de malignidad y muerte en pacientes con cáncer (6).

## Introducción. Anemia y ERC

### 1.2 Etiopatogenia

A pesar de que el déficit de EPO pueda contribuir a la anemia de la ERC, éste no es el único factor causal ya que la anemia de los pacientes con ERC es resistente a los AEE en aproximadamente 10-20% de los pacientes (3).

La anemia en la enfermedad renal crónica tiene un origen multifactorial. Numerosos estudios sugieren que existen inhibidores de la eritropoyesis circulantes inducidos por la uremia que contribuyen a la anemia, aunque dichos factores no han sido claramente identificados (7). También contribuye la menor supervivencia de los hematíes demostrada mediante estudios con radioisótopos. En pacientes en hemodiálisis, los déficits nutricionales como de ácido fólico y de vitamina B12 a causa de la anorexia o de las pérdidas con el dializado hacen que la suplementación sea común en dichos pacientes (7).

A pesar de que la etiología no está aún clarificada y que se han propuesto distintos mecanismos implicados en la etiopatogenia de la anemia, la alteración en la homeostasis del hierro es uno de los factores más importantes ( figura 3).

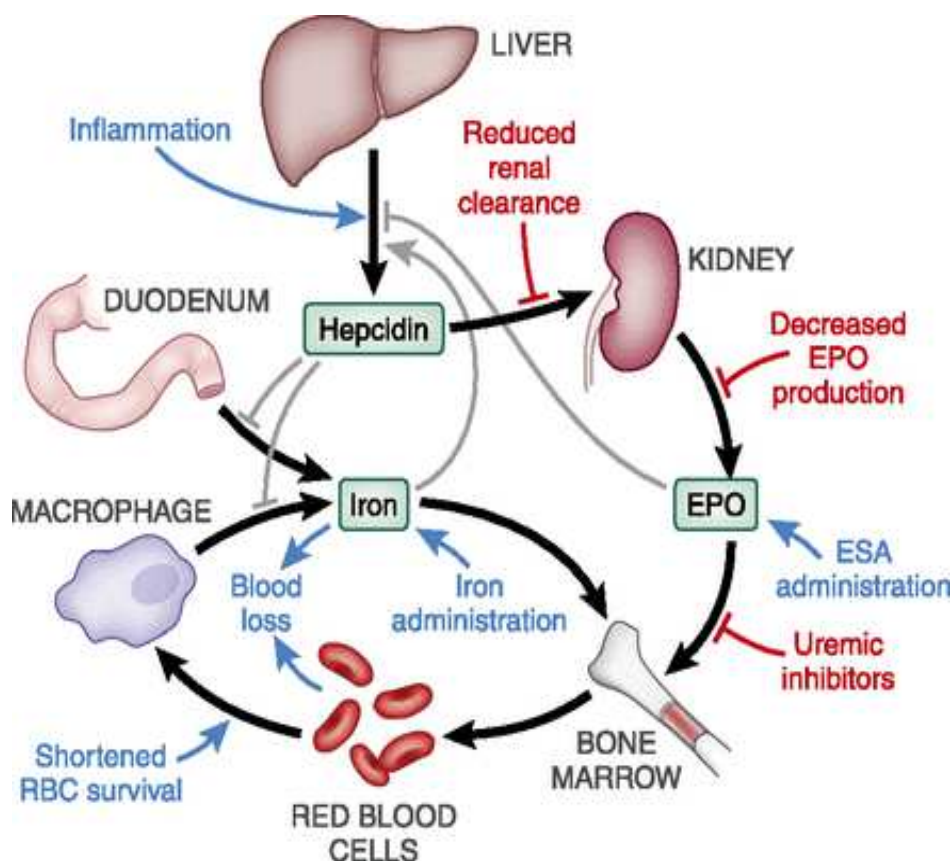


Figura 3. Representación esquemática de los mecanismos implicados en la anemia de la ERC

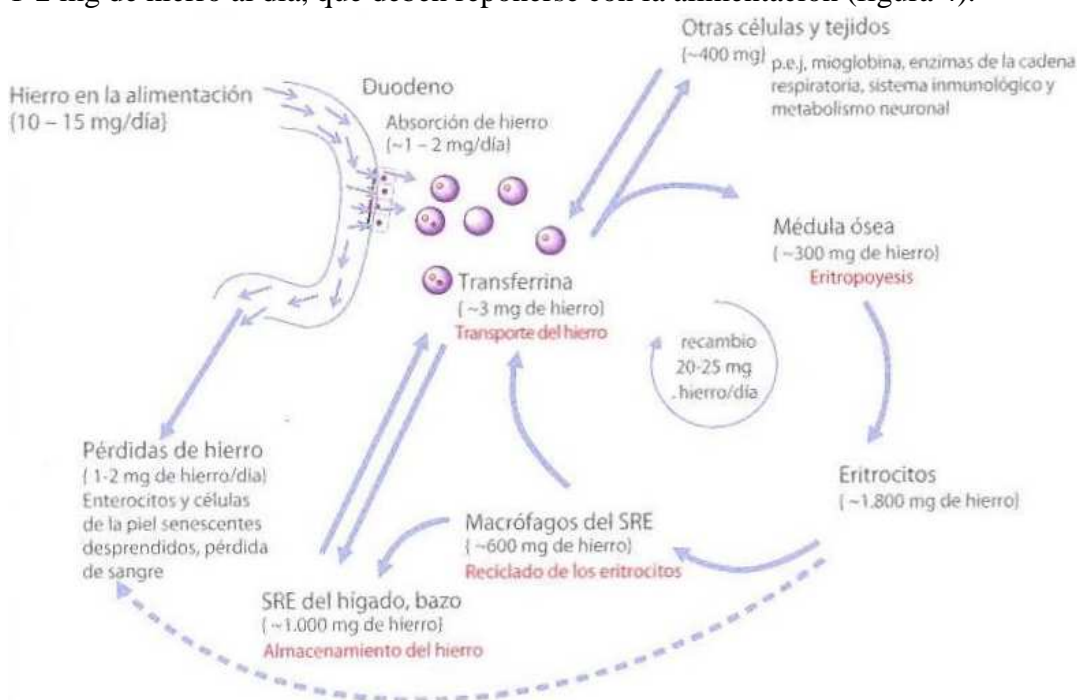
## Introducción. Anemia y ERC

### 1.3 Metabolismo del hierro

El hierro es el oligoelemento más abundante del cuerpo humano; no es sólo un componente de la hemoglobina, sino que también es necesario para importantes mecanismos metabólicos como la respiración celular, glicólisis, oxidación de ácidos grasos y síntesis de ADN.

El metabolismo del hierro incluye una serie de importantes procesos, como la regulación de la absorción del hierro intestinal, el transporte a las células, el almacenamiento del hierro, la incorporación de hierro a las proteínas y su reciclado tras la degradación de los eritrocitos. En condiciones normales, al no haber un mecanismo de excreción activo, la homeostasis del hierro se controla estrictamente a nivel de absorción intestinal.

El contenido medio de hierro en el organismo es de 3-4 g, distribuido en eritrocitos, macrófagos del sistema reticuloendotelial (SER), hígado, médula ósea, músculos y otros tejidos. El hierro se mantiene en un equilibrio dinámico en la circulación entre los distintos compartimentos: casi todo el hierro liberado por la descomposición de la Hb de los eritrocitos senescentes, alrededor de 20-25 mg/día, se reutiliza (8), y sólo se pierden 1-2 mg de hierro al día, que deben reponerse con la alimentación (figura 4).



**Figura 4.** Ilustración esquemática del recambio de hierro del organismo

Una dieta equilibrada contienen 5-6 mg de hierro por cada 1000 Kcal, correspondientes a una ingesta diaria de 12-18 mg de hierro total/día, de los cuales se absorben 1-2 mg. Pese a que sólo se absorbe una pequeña proporción del hierro de la alimentación, observándose diferencias inter e intra-individuales (9), una alimentación equilibrada



## **Introducción. Anemia y ERC**

En condiciones fisiológicas, se producen 2 millones de eritrocitos por segundo, para lo que se requieren alrededor de 20-25 mg de hierro al día. La mayoría del hierro requerido se deriva de la Hb degradada de los eritrocitos senescentes fagocitados.

Los lugares principales de eritropoyesis en adultos son las poblaciones de eritroblastos de la médula ósea. El principal regulador de la eritropoyesis es la EPO, cuya síntesis se incrementa en respuesta a la hipoxia tisular.

En las personas sanas, alrededor del 25% del hierro total del organismo ( 800-1000mg) representa el hierro de los depósitos, principalmente en forma de ferritina en el hígado, bazo y músculo esquelético. La ferritina está presente en casi todos los tipos de células y las pequeñas cantidades de ferritina sérica están relacionadas con la cantidad de ferritina hepática. Como tal, la ferritina sérica es un indicador de los depósitos de hierro. Es una proteína citosólica formada por 24 cadenas polipeptídicas dispuestas circularmente alrededor de un núcleo de hierro (III)-oxihidróxido-fosfato polinuclear (11). El núcleo está formado por un máximo de ocho sub-unidades con una gran superficie que permite un rápido recambio del hierro. El hierro secuestrado es una forma no tóxica e inactiva de redox y está disponible de forma inmediata para satisfacer las necesidades de las células.

La hemosiderina, otra proteína de almacenamiento, parece derivarse de la ferritina, su estructura no está bien definida y la disponibilidad de hierro es menor que la de la ferritina.

### **1.3.1 Regulación de la homeostasis del hierro: la hepcidina.**

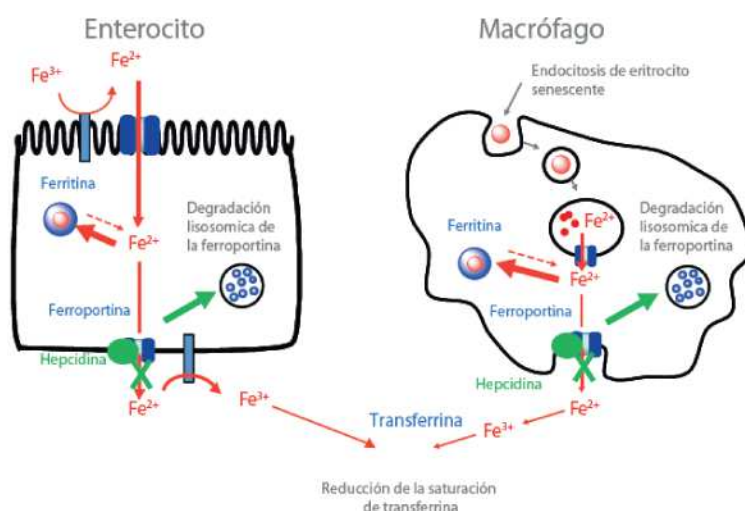
La homeostasis del hierro se regula por los niveles sistémicos e intracelulares de hierro. El suministro de hierro sistémico y la homeostasis se basa en el hierro plasmático, que debe mantenerse a niveles suficientes para estar disponible para su uso. A nivel sistémico, se mantiene el equilibrio a través de la regulación de la captación de hierro del aparato intestinal, el reciclado del hierro de los macrófagos y el intercambio con los depósitos de hierro en el hígado.

La hepcidina se considera actualmente la principal reguladora del equilibrio del hierro sistémico, que ejerce su función desencadenando la degradación de la proteína de exportación de hierro ferroportina.

La forma bioactiva es una proteína de 25 aminoácidos que se produce principalmente en el hígado. La hepcidina actúa uniéndose a la ferroportina, desencadenando su internalización y posterior degradación lisosómica. Puesto que la ferroportina es la proteína que exporta el hierro celular, la hepcidina provoca el atrapamiento de hierro en los enterocitos así como en los macrófagos y hepatocitos (figura 6).



## Introducción. Anemia y ERC

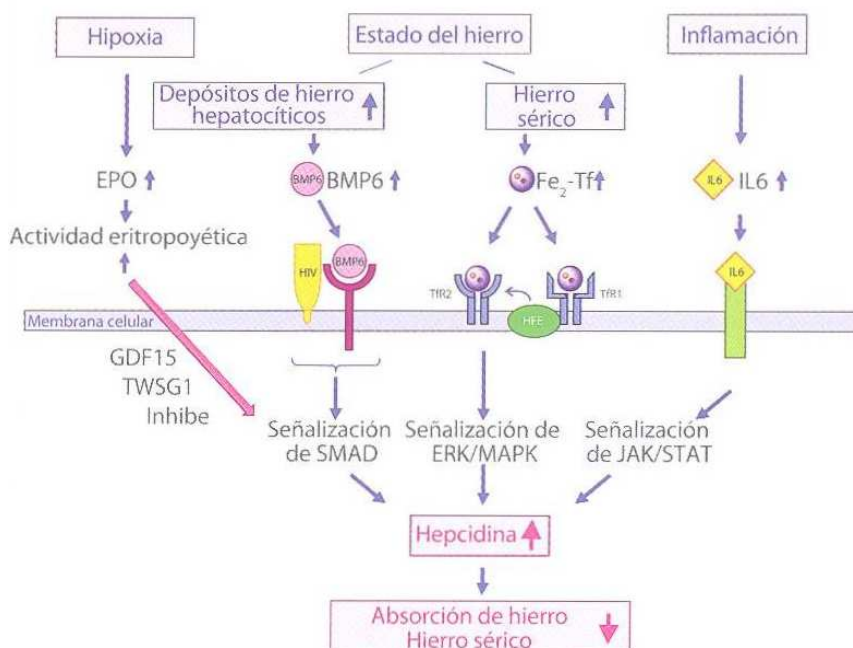


**Figura 6. La hepcidina provoca la degradación de ferroportina y evita la exportación de hierro de los enterocitos y macrófagos a la circulación**

La expresión de hepcidina en respuesta a la disponibilidad de hierro está regulada por los niveles de transferrina. Las concentraciones elevadas de transferrina diférrica (reflejo de niveles elevados de hierro) aumentan la expresión de hepcidina y por tanto, reducen la captación de hierro.

La eritropoyesis requiere cantidades considerables de hierro y, por tanto, la inhibición de la expresión de la hepcidina por la actividad eritropoyética desempeña un papel fisiológico fundamental.

Otros estímulos de esta hormona son los estados inflamatorios (a través de la interleucina-6 (IL-6) y la disminución del filtrado glomerular (FG), ambas condiciones presentes en los pacientes con ERC (figura 7).

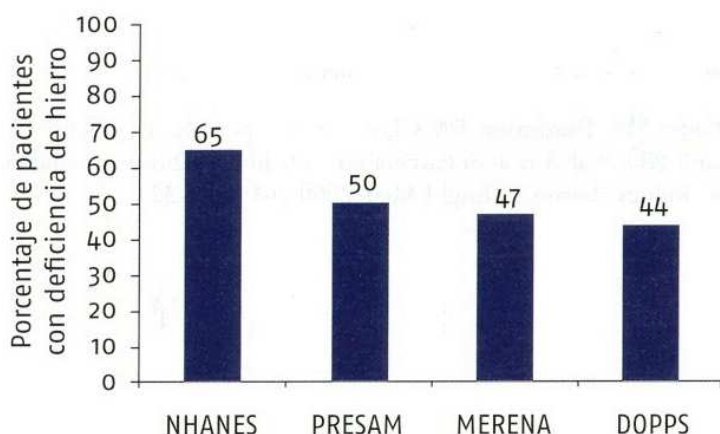


**Figura 7. Regulación de la expresión de hepcidina según la disponibilidad sistémica de hierro y el estado inflamatorio/infeccioso**

## Introducción. Anemia y ERC

### 1.3.2 Déficit de hierro

La prevalencia del déficit de hierro (DH) en pacientes con ERC oscila alrededor del 50% según los estudios (figura 8; 12). En el análisis combinado de cohortes de la Encuesta del Examen Nacional de Salud y Nutrición (NHANES), se determinó el estado del hierro en los pacientes con ERC. En los estadios 3-5, aproximadamente el 59% de los hombres y hasta el 73% de las mujeres presentaban niveles de hierro inferiores a los recomendados por las guías para el control de la anemia (3).



**Figura 8. Prevalencia de déficit de hierro en distintos subgrupos de pacientes con enfermedad renal crónica**

En los últimos años, varias publicaciones han sugerido distintas definiciones para los distintos tipos de déficit de hierro( 13-15).

El déficit absoluto de hierro (DAH) es un déficit de los depósitos totales de hierro del organismo, que aparece cuando las necesidades de hierro superan al suministro o cuando las pérdidas superan a la ingesta alimentaria. Se caracteriza por niveles bajos de ferritina sérica y niveles bajos del índice de saturación de la transferrina (IST).

El déficit funcional de hierro (DFH) aparece cuando la movilización del hierro no es suficientemente rápida para satisfacer el aumento de la demanda durante la estimulación intensa por la EPO endógena o con el tratamiento con AEE. Los pacientes presentan niveles normales o elevados de ferritina sérica.

Por último, el secuestro de hierro o anemia por enfermedad crónica se observa en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas; las citoquinas proinflamatorias induce la estimulación de la hepcidina que bloquea la liberación de hierro de los macrófagos del SER, enterocitos y los hepatocitos de forma que el suministro de hierro en el plasma disminuye.

Los pacientes con ERC presentan un incremento de las pérdidas de hierro ( se estima en 1-3 g al año en pacientes en hemodiálisis), a causa de sangrados crónicos por la disfunción plaquetar ocasionada por la uremia, frecuentes flebotomías y por las pérdidas

## **Introducción. Anemia y ERC**

de sangre en los circuitos de las máquinas de diálisis(7). Además, son pacientes en que la absorción de hierro está disminuida. También, en su mayoría, están tratados con AEE lo que incrementa las demandas de hierro para aumentar la eritropoyesis. Por todo ello, los pacientes con ERC son propensos a presentar un déficit absoluto de hierro y por tanto su suplementación es uno de los pilares del tratamiento de la anemia.

Además, un 20% de los pacientes con ERC presentan niveles elevados de hepcidina, estimulada por la inflamación propia de la ERC y por la disminución progresiva del filtrado glomerular. Así, niveles elevados de hepcidina pueden afectar a la movilización de la tasa de hierro impidiendo alcanzar unas demandas, ya de por sí, incrementadas. Esto conduce a un déficit funcional de hierro, causa frecuente de falta de respuesta a la terapia férrica.

### **1.4 Factor de riesgo cardiovascular**

El déficit de hierro constituye además, un factor de riesgo de arteriosclerosis (16,17), ya que existe un defecto de producción de proteínas contenedoras de hierro con capacidad antioxidante.

Se ha observado que pacientes con déficit de hierro presentan mayor nivel de moléculas de adhesión, moléculas que de per se constituyen un factor de riesgo de desarrollar arterioesclerosis y son factores independiente de mortalidad cardiovascular (18,19). En ERC, los marcadores de inflamación y la expresión de moléculas de adhesión está aumentada. En población con función renal normal, la corrección de la deficiencia de hierro disminuye la expresión de estas moléculas (20), aunque no existen estudios en pacientes con ERC prediálisis.

Por otra parte, la anemia por déficit de hierro también se asocia a un incremento del estrés oxidativo y a un déficit de la capacidad antioxidante de los hematíes (21,22). El estrés oxidativo agrava la anemia de la ERC por lesión directa del DNA de las células eritroides precursoras, disminuye la bioactividad de la eritropoyetina (23) y provoca peroxidación lipídica en los hematíes (24). Además, en los pacientes con ERC ya existe un mayor estrés oxidativo que se manifiesta por un aumento de los marcadores de oxidación proteica y peroxidación lipídica, y por una disminución de los sistemas antioxidantes (25,26). Se desconoce si este estado basal oxidativo característico de la ERC podría tener alguna influencia en la respuesta al tratamiento con hierro endovenoso (ev) en pacientes con anemia por déficit de hierro y ERC.

## **Tratamiento del DH**

### **2. Tratamiento del déficit de hierro**

#### **2.1 Objetivo terapéutico**

Las guías de práctica clínica recomiendan el uso de hierro vía oral(vo) o ev en los pacientes con ERC con el objetivo de asegurar un adecuado depósito de hierro, tratar el déficit de hierro y para prevenir su desarrollo en los pacientes tratados con AEE.

Al administrar hierro se debe realizar un balance entre los beneficios potenciales (evitar o minimizar transfusiones, la terapia con AEE y síntomas relacionados con la anemia) y los riesgos (reacciones anafilactoides y otras reacciones agudas, riesgos a largo plazo desconocidos) individualizando cada paciente.

Ya que a la práctica clínica no se realizan aspirados de médula ósea para testar los depósitos de hierro, los tests convencionales utilizados para evaluar y predecir la respuesta al tratamiento son el IST y los niveles de ferritina. Prescribir un tratamiento con hierro en pacientes con ERC puede ser complicado por la pobre utilidad diagnóstica de la ferritina y los niveles de IST para estimar las reservas corporales de hierro o para predecir la respuesta de la Hb a la suplementación con hierro.

Según las últimas recomendaciones se debería iniciar tratamiento con hierro cuando los niveles de IST sean < 25% y/o la ferritina <200 ng/ml en pacientes prediálisis y ferritina <300 ng/ml en diálisis( ERBP), o niveles <30% y/o ferritina <500 ng/ml (KDOQI)(27).

#### **2.2 Factores predictores de respuesta**

Sólo la mitad de los pacientes con ERC prediálisis responden al tratamiento (28). Los tests convencionales utilizados para evaluar y predecir la respuesta al tratamiento son el IST y los niveles de ferritina, siendo el IST mejor predictor de respuesta (29). No obstante, ninguna de estos tests puede predecir con gran precisión el grado de respuesta debido a que estos marcadores están condicionados por la presencia de malnutrición, inflamación e infección, condiciones presentes en ERC (30). Así, una tercera parte de los pacientes con ERC responden al tratamiento con hierro a pesar de tener los marcadores de depósito normales y/o elevados.

Existen estudios que describen posibles factores de resistencia a los AEE en pacientes con ERC (variables demográficas, la uremia, el estrés oxidativo, la inflamación, el hiperparatiroidismo, los agentes moduladores de la angiotensina...); Sin embargo, los factores que pueden afectar la respuesta de la anemia al tratamiento con hierro ev en la ERC no están bien definidos.

## Tratamiento del DH

### 2.3. Terapia férrica

#### 2.3.1 oral vs endovenosa

Las guías de práctica clínica recomiendan el uso de hierro vo/ev para el tratamiento de la anemia por déficit de hierro de los pacientes con ERC prediálisis(27). No obstante, el tratamiento con hierro oral tiene varias limitaciones como su pobre absorción intestinal (ya sea a causa de interacciones con otras medicaciones concomitantes como quelantes del fósforo, inhibidores del ácido gástrico, o por la inflamación), bajos índices de liberación de hierro, prolongación del tiempo de reposición de los depósitos de hierro, efectos adversos frecuentes (sobre todo gastrointestinales que afectan al 10-40% de los pacientes dependiendo del tipo de preparado) y en consecuencia baja adherencia al tratamiento, motivo por el que el hierro ev suele ser la mejor opción de reposición en estos pacientes (tabla 1).

	vo	ev
Efectos adversos	+++ (gastrointestinales)	+ anafilaxia/estrés oxidativo
Absorción	limitada	-
Cumplimento	bajo	
Eficacia- Hb(>1g)	+	+++
Eficacia-IST	+	+++
Eficacia-Ferritina	+	+++
Calidad vida	-	mejoría

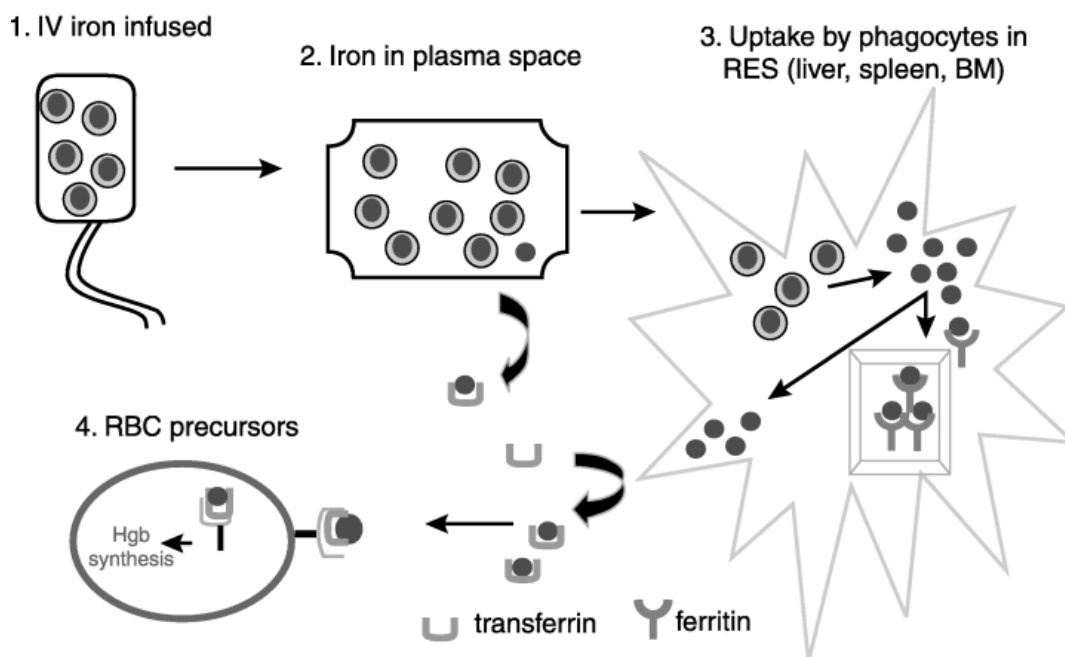
#### 2.3.2 Hierro endovenoso

El tratamiento con hierro ev puede ser más adecuado para los pacientes que no toleren las cantidades necesarias de hierro oral o cuando la demanda supera la tasa de sustitución posible con los suplementos de hierro oral. Debe aplicarse siempre que se requiera un efecto rápido o cuando deban evitarse las transfusiones de sangre. En combinación con los AEE, el hierro ev puede reducir de manera significativa las necesidades de AEE y por tanto los costes de tratamiento.

#### -Tipos y mecanismo de acción

Al administrar hierro endovenoso se produce una elevación abrupta del hierro sérico, produciéndose una sobresaturación de la transferrina (proteína transportadora), quedando hierro sérico libre (Fe 2+) que reacciona con el peróxido de hidrógeno para formar radicales hidroxilo oxidantes e inducción de estrés oxidativo.

## Tratamiento del DH



**Figura 9.**Mecanismo de acción del hierro ev

La cantidad de Fe libre dependerá del tipo de hierro empleado. Existen distintos tipos de preparaciones de hierro ev según su peso molecular y sus características farmacocinéticas (tabla 2).

Iron product generic name (brand name)	Year of U.S. FDA approval	Molecular weight in kilodaltons (kDa)	Maximum approved single dose, administration time	Common off-label maximal dose and administration time	Test dose?
Iron dextran, low molecular weight (INFeD)	1991	165	100 mg over >30 s	1000 mg or more i.v. over 4 h	Yes, 25 mg; monitor 15–30 min
Iron dextran, high molecular weight (Dexferrum)	1996	265	100 mg over >30 s	1000 mg or more i.v. over 4 h	Yes, 25 mg; monitor 15–30 min
Sodium ferric gluconate complex (Ferrlecit, Nulecit)	1999	289–444	125 mg i.v. push over 10 min	250 mg i.v. over 15 min	No
Iron sucrose (Venofer)	2000	34–60	200 mg i.v. over 2–5 min <sup>a</sup>	300 mg i.v. over 1 h	No
<b>Newer iron products</b>					
Ferumoxyl (Feraheme)	2009	750 kDa	510 mg i.v., <1 min	Same dose as 15 min infusion	No
Ferric carboxymaltose (Injectafer in USA; Ferinject in Europe)	2013	150	750 mg slow push or infusion over 15 min	None	No
Iron isomaltoside (Monofer in Europe; not approved in USA)	Europe only, 2009, not submitted for U.S. approval	150	20 mg/kg over 30–60 min	None	No

**Tabla 2.**Formulaciones de hierro ev , características y opciones de dosis



## Tratamiento del DH

Los primeros preparados de hierro coloide utilizados hace más de un siglo fueron limitados a pocos miligramos a causa de la masiva liberación de hierro libre (31,32).

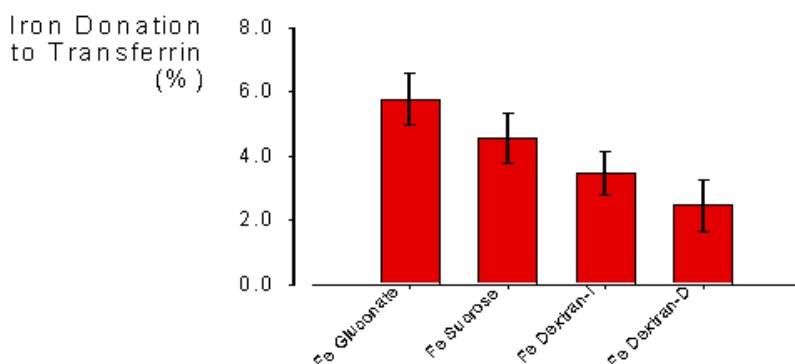
Posteriormente aparecieron los preparados con cubierta que disminuían la liberación de hierro. Estos agentes constan de un núcleo de óxido-hidróxido de hierro (III), similar a la ferritina, rodeado por una cubierta que le da estabilidad y desacelera la liberación de hierro.



**Figura 10 a)b) Estructura y tamaño de distintos tipos de hierro**

Inicialmente se comercializó el hierro dextrano de alto peso molecular, pero fue limitado en 1991 porque, a pesar de tener un cubierta que limitaba el efecto tóxico de hierro libre como sucedía con sus predecesores, el dextrano generó graves reacciones anafilácticas. El hierro dextrano de bajo peso molecular fue introducido en 1992. Precisa de un test previo con dosis bajas ( 25 mg )con monitorización posterior durante almenos 1 hora antes de administrar la dosis deseada. Además debe administrarse en un lugar que tenga un equipo preparado para atender reacciones de tipo anafiláctico.

El gluconato férrico de sodio y el hierro sucrosa pueden usarse sin test de dosis previo y presentan menor riesgo de reacciones de hipersensibilidad gracias a su cubierta carbohidratada ; sin embargo, las dosis a administrar son limitadas y al tratarse de moléculas de bajo peso molecular son menos estables, sobresaturan más a la transferrina y por tanto liberan hierro en el plasma más fácilmente.



**Figura 11. Saturación de la transferrina por distintos tipos de hierro**

Una molécula con baja inmunogenicidad, estable y sin toxicidad aguda por hierro lábil se convertiría en el gold estándar del tratamiento con hierro intravenoso.

## **Tratamiento del DH**

### **- Efecto sobre la inflamación y moléculas de adhesión**

Existen algunos estudios, sobre todo en diálisis, en los que se demuestra que el tratamiento con hierro ev aumenta el estado inflamatorio ( 33). Sin embargo, en otros estudios en los que se utilizan distintos preparados, a distintas dosis y frecuencias de administración no se evidencia dicho aumento (34,35).

Existe poca evidencia de la acción del hierro sobre la expresión de moléculas de adhesión. Estudios experimentales que analizan el efecto de distintas moléculas de hierro sobre las células mononucleares de pacientes en hemodiálisis demuestran que existe una lesión y activación de estas células(36,37).

Un estudio reciente demuestra que el hierro sucrosa acelera una aterogénesis temprana y una sobreexpresión de moléculas de adhesión en ERC, sugiriendo que el tratamiento con hierro jugaría un papel causal novedoso en las complicaciones cardiovasculares en pacientes con ERC(38).

Se ha sugerido que diferencias en las características farmacológicas de los preparados de hierro, así como la posología de administración (dosis , intervalos de administración) del hierro administrado, podrían comportar variaciones en el efecto inflamatorio ,sobre las moléculas de adhesión y efecto prooxidante (39-41).

Estudios en ratas sanas ha demostrado que la carboximaltosa férrica muestra mejor perfil de seguridad respecto a la respuesta tisular inflamatoria y oxidativa.

### **- Efecto sobre el metabolismo del fósforo**

Existen estudios en población general en los que está descrita una hipofosforemia tras un tratamiento con algunos preparados de hierro.

Este efecto se ha observado tras la administración de algunas preparaciones como el hierro sacarosa o el hierro polimaltosa( 42,43); sin embargo , no se ha objetivado con otros tipos de hierro ( hierro gluconato, hierro isomaltosa) ( 44,45).

Un efecto adverso común , descrito en pacientes ginecológicas con anemia ferropénica tratadas con carboximaltosa, es una hipofosfatemia asintomática y transitoria (46,47). Recientemente se ha publicado un estudio de más de 100 pacientes sin insuficiencia renal comparando la hipofosfatemia ocasionada tras la administración de CMF con el hierro sucrosa, siendo ésta superior y más severa con CMF a mayor dosis(48); de igual manera Sanchez y col. reafirman la hipofosfatemia tras administrar CMF como una efecto temprano, frecuente ( >50% de los pacientes) y en ocasiones prolongado(49).

Sin embargo, este efecto ha sido poco descrito en población con insuficiencia renal crónica prediálisis o en hemodiálisis ( 50-53).



## Tratamiento del DH

Aunque la causa está aún por dilucidar, parece ser que el hierro en sí tendría un efecto tóxico directo sobre el túbulo renal proximal impidiendo la reabsorción de fósforo (54).

Pero además de la pérdida renal de fósforo, se ha documentado una inhibición de la actividad de la 25(OH) 1 $\alpha$  hidroxilasa y una disminución de los niveles de 1,25-OH-dihidroxivitamina D (42,43) asociado a un incremento del fibroblast growth factor 23 (FGF 23).

El FGF23 es una proteína de 251 aminoácidos que pertenece a un grupo de factores circulantes fosfatúricos conocidos como fosfatoninas. Se sintetiza en el osteocito ante aumentos mantenidos de fósforo e incrementos de vitamina D.

El FGF 23 se une a su receptor (proteína Klotho) y actúa a nivel renal provocando, por una lado, fosfatúria al inhibir la reabsorción de fósforo del túbulo proximal y por otro, disminuyendo la síntesis de vitamina D al inhibir la enzima alfa 1 hidroxilasa, disminuyendo así, de forma secundaria, la reabsorción intestinal de calcio y fósforo. Además, también interactúa en la glándula paratiroides inhibiendo la liberación y síntesis de hormona paratiroidea (Pth), de forma que existe una relación inversa entre FGF23 y Pth.

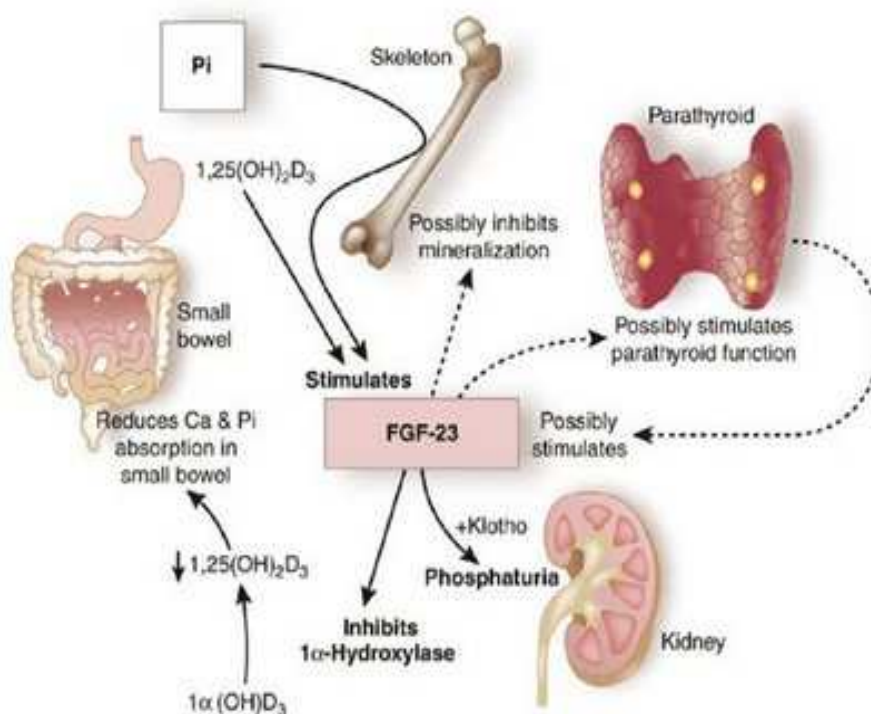


Figura 12. Acciones del FGF23

## **Tratamiento del DH**

En pacientes anémicos con función renal normal , tratados con hierro sacarosa o polimaltosa que han presentado hipofosforemia , se ha observado una alteración en la reabsorción tubular de fósforo , niveles bajos de 1,25(OH) vitamina D junto con niveles elevados de FGF 23 .

Sin embargo, no existen estudios en pacientes con enfermedad renal crónica avanzada.

En hemodiálisis, los preparados de hierro dextrano de bajo peso molecular o el hierro sacarosa también incrementan los niveles de FGF23 pero sin cambios en la fosfatemia.

Un estudio reciente en ratas nefrectomizadas a las que se les administraba dosis elevadas de hierro ev ( hierro isomaltosa y carboximaltosa) no presentaron cambios en los niveles de FGF23 ni de fósforo(55).

## CMF y anemia

### 3. Carboximaltosa férrica

#### 3.1 Propiedades físico-químicas.

La carboximaltosa férrica (CMF) es una nueva generación de hierro no dextrano, tipo 1, de 150 kDa, que está compuesta por un core de hidróxido de hierro estabilizado por una cubierta carbohidratada que permite una liberación controlada del hierro a los tejidos.

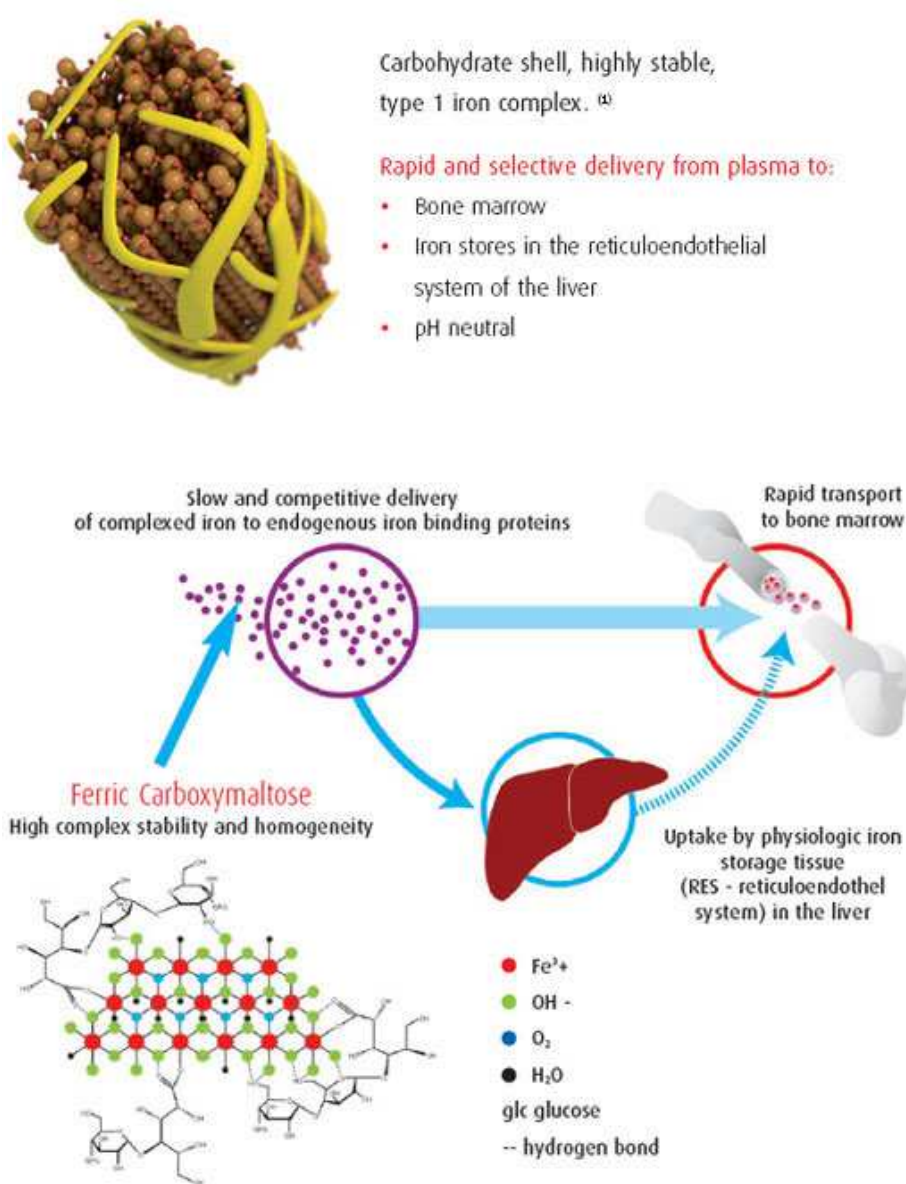


Figura 13. Estructura de la CMF

## CMF y anemia

Esta estructura se asemeja a la ferritina: el hierro queda atrapado en el centro y, por tanto, los efectos tóxicos derivados de los iones férricos libres ( hierro III) son limitados.

El hierro carboximaltosa es incorporado por los macrófagos del hígado, bazo y particularmente la médula ósea. Si es necesario, el hierro es liberado en el plasma donde se une a la tranferrina y es transportado a la médula ósea, donde ocurre la eritropoyesis. Esto induce a un incremento en la saturación de la transferrina y ferritina tisular, y rápidos incrementos en la hemoglobina.

Puede administrarse de forma rápida y a dosis elevadas sin ser necesario un test previo de ajuste de dosis (50).

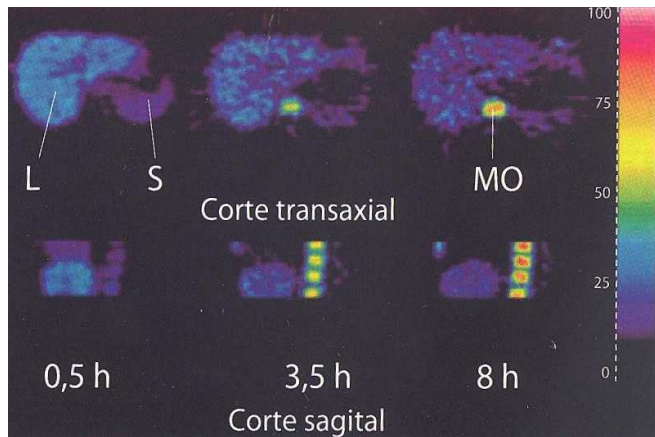
La administración de CMF produce un rápido aumento de los niveles séricos totales de hierro, que alcanza el máximo aproximadamente 1 hora después de la infusión. Los aumentos de los niveles séricos totales son aproximadamente proporcionales a las dosis y no hay pruebas de acumulación de dosis con las dosis repetidas. Los niveles séricos totales de hierro disminuyen rápidamente tras el máximo inicial, alcanzando niveles normales en menos de 24-72 horas (fig14).



**Figura 14. Perfil farmacocinético tras una dosis de CMF**

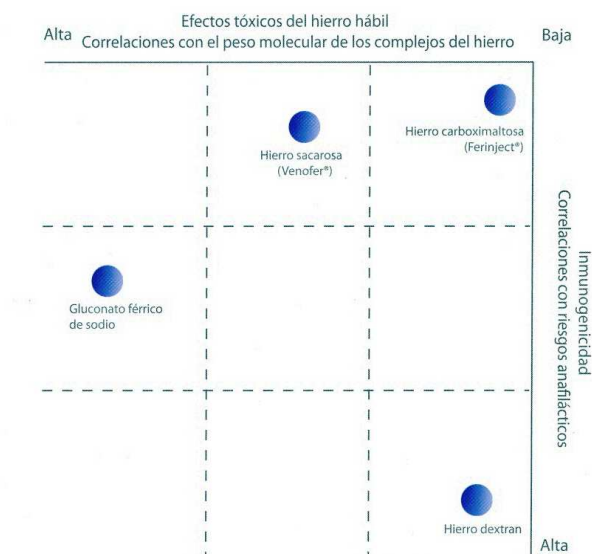
La parte principal del hierro de la dosis inyectada se distribuye rápidamente al hígado, el bazo y la médula ósea (fig 15). Los sistemas de transporte a la médula ósea no se saturan.

## CMF y anemia



**Figura 15.**Captación de la CMF en el hígado(L), bazo(S) y médula ósea ( MO)

Por otra parte los complejos de hierro dextran, están asociados a un riesgo elevado de reacciones alérgicas, menos común en preparaciones con hierro no dextran, como la carboximaltosa.(fig16)



**Figura 16** Balance de los riesgos potenciales del desarrollo de las reacciones de estrés oxidativo versus las reacciones de hipersensibilidad a las preparaciones de hierro parenteral.

## CMF y anemia

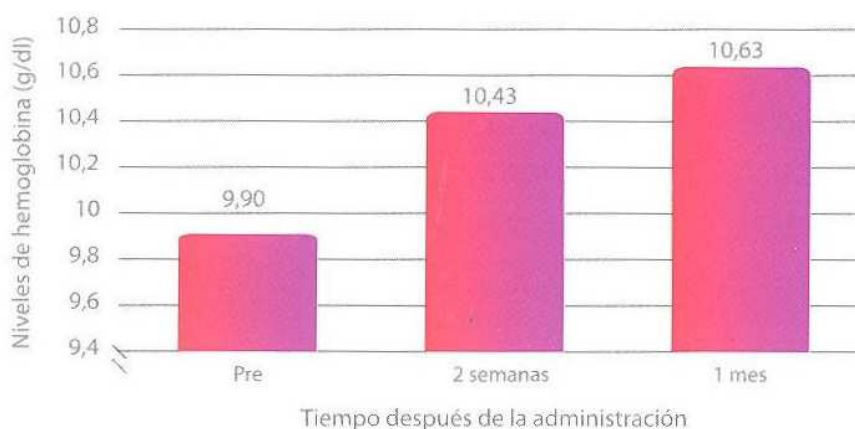
### 3.2 Eficacia en pacientes con ERC prediálisis

En un ensayo multicéntrico y aleatorizado (47) se comparó la eficacia de la CMF con hierro oral en pacientes con ERC prediálisis demostrando un mayor tasa de respuesta (considerada como incrementos de Hb  $>1$  g/dl) en el grupo de CMF que en el grupo de sulfato ferroso ( 60,4% frente al 34,7%,  $p < 0.001$ )

Además, el tratamiento con hierro carboximaltosa se acompañó de menos acontecimientos adversos relacionados con el fármaco que con hierro oral (2,7% frente al 26,2%,  $p < 0,0001$ ).

Onken et al también demostraron la eficacia y seguridad de dos dosis semanales de 750 mg de CMF , en una población de más de 2500 pacientes con ERC, como alternativa al tratamiento con hierro sucrosa a baja dosis( 200 mg) en múltiples administraciones(ensayo REPAIR-IDA )(56).

Además, se ha demostrado la eficacia de la CMF en ausencia de AEE. Tagboto y cols, realizaron un estudio prospectivo de 30 pacientes con ERC prediálisis que recibieron una dosis única de CMF (800 mg). Los niveles medios de Hb aumentaron de 9,9g/dl inicialmente a 10,6 g/dl en el primer mes después de la administración de CMF (fig 17).



**Figura 17. Efecto de CMF sobre los niveles de hemoglobina.**

Recientemente se ha realizado el estudio FIND-CKD, estudio multicéntrico, prospectivo que incluía 626 pacientes con ERC comparando el uso de CMF ev en dos subgrupos según los niveles de ferritina basales, frente a hierro oral (hierro sulfato) , siendo más efectiva la CMF en la obtención y mantenimiento de niveles óptimos de Hb, permitiendo no iniciar o disminuir el uso de AEE (57).

Toblli y Gennaro han demostrado que en pacientes que estaban en tratamiento con hierro oral y AEE, al administrar una dosis única de CMF se alcanzaban los targets de Hb y niveles férricos pudiendo reducir de uso de AEE y los costes (58).

## **Hipòtesis**

En base al tipo de molécula del complejo carbohidrato-hidróxido férrico, la liberación controlada de hierro al sistema retículoendotelial y posterior unión a proteínas transportadoras de hierro, el uso de CMF podría comportar una menor liberación de grandes cantidades de hierro ferroso a la sangre y secundariamente menor inflamación y daño endotelial en los pacientes con ERC.

La respuesta al tratamiento con CMF podría estar condicionada por el estado oxidativo y la inflamación características de los pacientes con ERC.

# **Objetivos**



## Objetivos

1. Analizar los factores predictores de respuesta al tratamiento con carboximaltosa férrica en pacientes con ERC prediálisis.
  - A) Eficacia de la carboximaltosa férrica en la enfermedad renal crónica prediálisis
  - B) Factores predictores de respuesta
  - C) Influencia del estrés oxidativo
  
2. Analizar el efecto de la administración de carboximaltosa sobre la inflamación y moléculas de adhesión en pacientes con ERC prediálisis.
  - A) Efecto agudo de la carboximaltosa sobre la inflamación y moléculas de adhesión
  - B) Efecto subagudo de la carboximaltosa sobre la inflamación y moléculas de adhesión
  
3. Evaluar el efecto de la administración de carboximaltosa sobre el metabolismo mineral óseo en pacientes con ERC prediálisis.
  - A) Efecto sobre los niveles de calcio, fósforo, PTH y calcitriol.
  - B) Efecto sobre los niveles de FGF23
  - C) Influencia del tratamiento con vitamina D

## **Material y Métodos**

### **Pacientes**

Se seleccionaron 50 pacientes con ERC prediálisis y anemia ferropénica, mayores de edad, de las consultas externas de Nefrología del Hospital Universitario de Joan XXIII de Tarragona.

Los criterios de inclusión eran los siguientes: FG <60 ml/min, Hb <11g/dl, IST <20% y/o ferritina <100 ng/ml. Fueron excluidos los pacientes que hubieran recibido hierro (oral o endovenoso) o transfusiones en los tres meses previos, aquellos que presentaban infección o sangrado activo, así como antecedentes de hipersensibilidad a otros preparados con hierro ev.

Durante el estudio se excluyeron tres pacientes ( 2 por sangrado digestivo y 1 por falta de adherencia al protocolo). La muestra final analizada fue de 47 pacientes.

El estudio fue aprobado por el comité ético del hospital y todos los pacientes firmaron el consentimiento informado.

### **Diseño**

Se trata de un estudio prospectivo que duró 18 meses. Los pacientes recibieron una dosis única de CMF ( Ferinject<sup>R</sup>, Vifor Pharma) a razón de 15 mg /kg (dosis máxima 1000 mg) diluido en 250 mL de suero salino en 30 minutos. Se hizo seguimiento durante 3 meses.

Dependiendo de la respuesta eritropoyética ( entendida como incremento de  $\geq 1$  g/dl de Hb respecto a la basal en cualquier momento del seguimiento ) los pacientes se clasificaron como respondedores y no respondedores.

Para la evaluación de la influencia sobre los niveles de fósforo, los pacientes fueron clasificados en hipofosfatémicos o no hipofosfatémicos si los niveles de fósforo obtenidos en la tercera semana tras el tratamiento, descendían o no se modificaban o incluso aumentaban comparados con los niveles basales, respectivamente.

### **Determinación de variables clínicas**

Se determinaron variables demográficas, antropométricas, etiología y estadio de la ERC, la presencia o no de diabetes mellitus, HTA o DLP, el uso de bloqueantes del sistema renina – angiotensina y/o el uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis, como posibles factores implicados en la respuesta al tratamiento.

### **Determinaciones bioquímicas**

Se determinaron los niveles de hemoglobina, IST y ferritina de forma basal, a las 3 semanas y a los 3 meses de seguimiento por métodos convencionales. Se determinaron los niveles basales de albúmina y de creatinina y se calculó el filtrado glomerular mediante la fórmula abreviada MDRD4 ( Modification of Diet in Renal Disease); Los niveles séricos de hormona paratiroidea ( PTH) y la 25-hidroxivitamina D se determinaron mediante quimioluminiscencia ( DPC Laboratories, Miami, FL, USA y

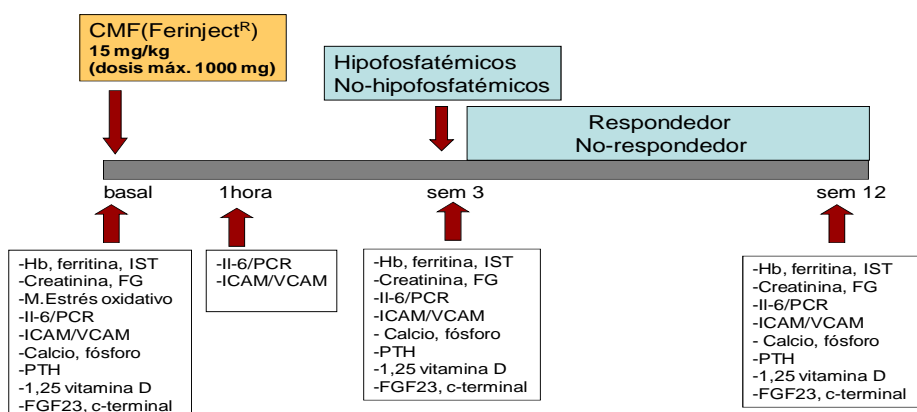
Diasorin, Saluggia, Italy, respectivamente) ; los niveles de calcitriol ( 1,25(OH)2D) fueron determinados por RIA ( Diasorce Immuno Assays, Belgium). Las concentraciones séricas de FGF23 fueron determinados mediante la fracción C- terminal del FGF23 con el kit ELISA(Immutopic Inc, San Clemente, CA, USA).El análisis de la fracción c-terminal utiliza dos anticuerpos contra la porción terminal carboxyl de la molécula y detecta tanto la intacta total como la FGF23 c-terminal.

### Marcadores de inflamación-moléculas de adhesión

De forma basal, a la hora de administración de la CMF, a las 3 semanas y a los 3 meses se determinaron los niveles plasmáticos de proteína C reactiva (PCR) ultrasensible y la interleucina 6 (IL-6), mediante el kit para PCR N High Sensivity ( Dade Bering,Newark,EE.UU) y mediante el kit comercial Human IL 6 Quantikine HS High Sensivity ( R&D Systems, Lille, France), respectivamente. Los niveles de molécula-1 de adhesión intercelular soluble (sICAM-1) y molécula-1 de adhesión celular vascular soluble ( sVCAM-1) fueron determinados mediante el kit ELISA de QuantiKine ( R and D Systems, Minneapolis, EEUU).

### Marcadores de oxidación

De forma basal , la carbonización proteica fue determinada usando el método descrito por Levine et al (59) con las modificaciones introducidas por Cotomontes y Handerland ( 60). El daño lipídico fue determinado cuantificando la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL ox) utilizando un kit ELISA ( Mercodia, Uppsala, Sweden).La superóxido dismutasa (SOD) determinada por el método de Misra y Fridovich (61)basado en la auto-oxidación de la epinefrina. La catalasa se determinó por el método de Cohen ( 62) basado en la determinación de la degradación del peróxido de hidrógeno. Utilizando el método de Wheeler ( 63 ) se determinó la glutatión peroxidasa (GPx) midiendo el consumo de fosfato dinucleótido adenina nicotinamida obtenido de la reducción en hidroperóxido tertbutilo.



## **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS v15 (IMC, Chicago, IL, USA).

Los valores se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar, y en el caso de los niveles de PTH y FGF23 como mediana y rango. La verificación o rechazo de la hipótesis de normalidad de las variables continuas se realizó con el test de Shapiro-Wilk. Los valores de la PCR ultrasensible y del FGF 23 no tuvieron una distribución normal, por lo que fueron transformados de forma logarítmica para el análisis estadístico.

Para la comparación de variables de distribución normal se utilizó el test de la t de Student. La asociación entre variables nominales se estudió mediante tablas de contingencia y el test de la chi cuadrado o el test de probabilidad exacta de Fisher.

Para analizar la asociación entre una variable continua y otra nominal se usó el test de la U de Mann-Whitney o el de Kruskal-Wallis en función si la variable era dicotómica o no. Se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para medir la asociación lineal entre dos variables continuas.

Para el análisis que implicaban medidas repetidas de variables continuas se utilizó el análisis de la varianza de medidas repetidas (ANOVA) con el criterio de la lambda de Wilks.

Finalmente, para determinar los factores predictores independientes de respuesta al tratamiento con CMF se utilizó el análisis multivariante de regresión logística, utilizando el método de eliminación hacia atrás, incorporando variables asociadas a la respuesta a la CMF como la ferritina, IST y la GPX eritrocitaria.

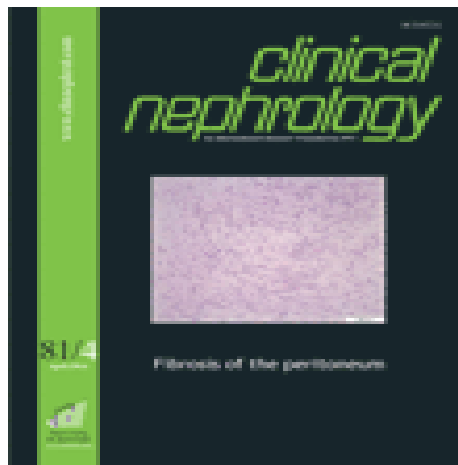
El nivel de significación estadística se fijó el de la  $p < 0.05$  en una prueba bilateral.

# **Resultados**

# Estudio 1

*“ Oxidative stress markers in predicting response to treatment with ferric carboxymaltose in non-dialysis chronic kidney disease patients”*

*Clinical Nephrology 2014;jun;81(6):419-26*



## Estudio 2

*“Efecto agudo y subagudo de la carboximaltosa férrica sobre la inflamación y moléculas de adhesión en pacientes con insuficiencia renal crónica prediálisis”*

*Nefrologia 2013;33(3):355-361*



## **Estudio 3**

*“Effect of ferric carboxymaltose on serum phosphate and C-terminal FGF23 levels in non-dialysis chronic kidney disease patients: post-hoc analysis of a prospective study”*

*BMC Nephrology 2013;14:167*





# **Discusión**

## Discusión

Los resultados de nuestro estudio demuestran que  $\frac{3}{4}$  partes de los pacientes con ERC y anemia ferropénica responden al tratamiento con CMF. El grado de respuesta fue mayor que el reportado con otros preparados de hierro que oscila entre el 39-68% (28,64-67) y similar a los obtenidos en otros estudios que utilizaban la CMF pero con dosis más elevadas( 52,68,69).

### **Factores predictores de respuesta**

Los factores predictores de respuesta al tratamiento con hierro en pacientes con ERC no están bien definidos. En nuestros pacientes, los marcadores convencionales del estatus del hierro no han tenido ningún valor predictivo en cuanto a la respuesta al tratamiento con CMF. No obstante, observamos cierta tendencia en el grupo respondedor a presentar niveles más bajos de IST aunque dicho marcador no demostró un valor predictivo independiente de respuesta al tratamiento en el análisis multivariante.

En nuestro estudio hemos analizado otros factores que habían sido identificados como factores de resistencia al tratamiento con AEE como también posibles factores implicados en la respuesta a la CMF. Sin embargo, no se observaron diferencias entre los dos grupos ni con la presencia de hiperparatiroidismo, ni déficit de vitamina D, ni el uso de IECA/ARAII o AEE.

La prevalencia de inflamación es elevada en nuestros pacientes y fue similar a la descrita en otros pacientes con ERC y anemia (28,70). Sin embargo, no hubo relación significativa entre la inflamación y la respuesta a la CMF. Así, los niveles de IL6 y PCR fueron similares en el grupo respondedor y no respondedor.

El principal hallazgo en nuestro estudio fue la asociación entre GPX y la respuesta al tratamiento con hierro. Una actividad disminuida de la GPX (capacidad antioxidante) fue un factor predictor independiente de respuesta a la CMF. La GPX es una importante enzima antioxidante que, utilizando el glutatión como agente para la reducción de peróxidos orgánicos y de hidrógeno, protege al eritrocito del daño oxidativo. Un déficit de GPX implica un incremento de estos radicales libres que podrían inducir la oxidación de distintos componentes de las células rojas y agravar la anemia (71).

Es conocido que la anemia por déficit de hierro va acompañada de un aumento del estrés oxidativo de los hematíes, con un incremento de la peroxidación lipídica, una disminución de la capacidad antioxidante y una mayor susceptibilidad a las sustancias prooxidantes (21). Además, el déficit de hierro y la insuficiencia renal aceleran la muerte de las células eritroides (72). El estrés oxidativo está presente desde estadios iniciales en la ERC y se manifiesta por un aumento de los productos de oxidación proteica y lipídica, daño oxidativo del DNA y un déficit de los sistemas antioxidantes (25,26). En nuestro estudio, al igual que en otros en pacientes en prediálisis o hemodiálisis (73-75), observamos un déficit de la actividad de la GPX. Finalmente el estrés oxidativo, agrava la anemia de los pacientes con ERC y es un factor de resistencia

## Discusión

al tratamiento con AEE (76,77). Por todo ello, no sorprende que niveles bajos de actividad de la GPX puedan estar implicados en la falta de respuesta al tratamiento con CMF.

En nuestro estudio no hemos observado implicación en la respuesta a CMF de otros sistemas antioxidantes, como la catalasa. La GPx tiene una mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno (generado en las membranas de las células rojas), que la catalasa, de forma que esta última no actúa de forma tan eficaz (78). Así pues, si existe una disminución de la actividad de la GPX, el incremento de peróxido de hidrógeno generado por las membranas no puede ser neutralizado con otros sistemas antioxidantes y podría contribuir a la oxidación y disfunción de los hematíes. Finalmente, la falta de asociación entre los marcadores de oxidación proteica y lipídica y la respuesta al tratamiento con CMF observada en nuestro estudio puede deberse a la dificultad de evaluar clínicamente el estrés oxidativo. Los radicales libres tienen un tiempo de vida media corto y la determinación de productos finales más específicos del proceso oxidativo tienen una elevada variabilidad intra e inter-individual.

### **Anemia ferropénica, ERC y riesgo cardiovascular**

El resultado de nuestro estudio demuestra que en pacientes con ERC prediálisis y anemia ferropénica, el tratamiento con CMF no induce inflamación ni provoca aumento de moléculas de adhesión.

La anemia ferropénica en pacientes con ERC constituye un problema de gran magnitud debido a su elevada prevalencia y a su contribución en la morbimortalidad asociada a la ERC. Se considera uno de los factores de riesgo cardiovascular no tradicional (79) y también está considerado como factor de riesgo independiente en el desarrollo de arteriosclerosis.

Los pacientes con anemia ferropénica presentan mayores niveles de moléculas de adhesión (20). Estas moléculas están implicadas en el inicio y agravamiento de las lesiones arterioscleróticas (80). En la ERC existe una sobreexpresión de dichas moléculas, mayor cuanto menor es el filtrado glomerular y manteniéndose elevadas en la población en tratamiento renal substitutivo. Niveles elevados de estas moléculas están asociados a la malnutrición, a la inflamación y a la enfermedad cardiovascular, sugiriendo una relación entre la activación vascular, la inflamación sistémica y la toxicidad urémica. Finalmente, la ERC está considerada como un estado inflamatorio que se ha implicado en diversas complicaciones de la ERC, como la malnutrición y la arteriosclerosis acelerada (81-83).

## Discusión

### **CMF e inflamación**

Se ha sugerido que el tratamiento con hierro endovenoso podría contribuir a la morbimortalidad de los pacientes con ERC a través del aumento del estrés oxidativo y de la inflamación. En nuestro estudio, el tratamiento con CMF no tuvo un efecto proinflamatorio ni de forma aguda ni a corto plazo.

Uno de los posibles mecanismos responsables del efecto neutro de la CMF sobre la inflamación podría ser que, al corregir la anemia, mejoraría o más bien contrarrestaría el estímulo inflamatorio de la CMF. De hecho, existen estudios en pacientes con anemia tratados con AEE en los que, tras la mejoría de las cifras de Hb, se produce una disminución de los parámetros inflamatorios, incluso si se administra con hierro (84). Por el contrario, en nuestro estudio, no observamos ninguna correlación entre los cambios en los niveles de Hb y los parámetros inflamatorios, lo que sugiere que el efecto neutro del tratamiento con CMF sobre la inflamación no estaría mediado por la mejoría de la anemia.

Otra posible explicación podrían ser las características de la molécula de CMF. Los preparados de hierro de bajo peso molecular y poca estabilidad termocinética (hierro gluconato, hierro sucrosa) provocan una elevación abrupta del hierro sérico, con sobresaturación de la transferrina y mayor hierro libre que condiciona un aumento de moléculas inflamatorias. Por el contrario, la carboximaltosa férrica es un complejo macromolecular de carbohidrato-hidróxido de hierro, diseñado para permitir una liberación controlada de hierro dentro de las células del sistema reticuloendotelial, minimizando el riesgo de liberar grandes cantidades de hierro iónico en suero. En un trabajo realizado en ratas(41), se comparó el efecto de distintos preparados de hierro, incluida la carboximaltosa, sobre la inflamación y el estrés oxidativo, concluyendo que dicha molécula induciría menor inflamación que los otros preparados.

Por último, hay que destacar la falta de un efecto proinflamatorio de la CMF con las elevadas dosis de esta molécula utilizadas en este estudio. En la mayoría de las publicaciones, las dosis administradas de hierro endovenoso son bajas en comparación con las de nuestro estudio, y en algunas, además, se aboga por la administración lenta del producto para minimizar dicho efecto proinflamatorio. Nosotros no hemos observado dicho efecto a pesar de utilizar grandes dosis (casi 1 gramo de media) en un intervalo corto de tiempo (máximo 30 minutos). No obstante, y dado que no existen estudios con un tiempo de seguimiento mayor de tres meses, las implicaciones del uso a largo plazo de CMF sobre el estado inflamatorio son desconocidas.

## **Discusión**

### **CMF y moléculas de adhesión**

Existen pocos estudios que analicen el efecto de la administración de hierro parenteral sobre las moléculas de adhesión en pacientes con ERC y anemia ferropénica.

En población con función renal normal, se ha observado que la administración de hierro oral produce una disminución de VCAM, pero no de ICAM( 20).

El tratamiento con cuatro preparados de hierro endovenoso (gluconato férrico, hierro sucrosa, hierro dextrano y CMF) provoca un aumento en la expresión de ICAM-1, especies reactivas de oxígeno y apoptosis en las células mononucleadas de pacientes con ERC estadio 5 y en pacientes en hemodiálisis, independientemente del hierro utilizado. Por el contrario, en nuestro estudio, el tratamiento con CMF no tuvo ningún efecto sobre los niveles de las moléculas de adhesión, al igual que se ha descrito con el hierro sucrosa sobre la función endotelial en pacientes en hemodiálisis o en diálisis peritoneal (85,86).

El mecanismo por el que la CMF no produciría lesión endotelial podría también estar relacionado con las características de la propia molécula, con una menor liberación de hierro iónico en suero y menor lesión endotelial.

Por último, debemos remarcar el efecto de las estatinas sobre las moléculas de adhesión. Es conocida la relación existente entre arteriosclerosis e inflamación (87), y que las estatinas disminuyen la inflamación sistémica y mejoran la función endotelial (88,89). En nuestro estudio, hemos objetivado menores niveles de VCAM en aquellos pacientes que estaban en tratamiento hipolipemiente, sugiriendo que las estatinas podrían contrarrestar el estímulo del tratamiento con CMF sobre dicha molécula de adhesión.

### **CMF y metabolismo del fósforo**

En nuestro estudio, hemos observado que en pacientes con ERC prediálisis, el administrar una única dosis de CMF, ocasiona una disminución significativa y sostenida de los niveles séricos de fósforo así como una disminución de los niveles de FGF23 c-terminal, pero sin cambios en los niveles de calcio, PTH o 1,25-vitD.

Es común observar en pacientes que han recibido CMF una hipofosfatemia moderada transitoria y asintomática, sobretudo en pacientes con anemia ferropénica postparto (46,47). Esta hipofosfatemia también ha sido documentada con otros preparados de hierro ev como los complejos con sacarosa (42) o con hierro polimaltosa (46), pero no con el hierro isomaltosa o el hierro dextrano de bajo peso molecular(90,91). Los mecanismos por los que disminuye el fósforo sérico son desconocidos así como el distinto efecto hipofosfatémico observado con varios tipos de hierro ev.

## Discusión

Se han sugerido varios mecanismos para explicar la hipofosfatemia inducida por hierro ev, que incluyen la restauración de una actividad eritropoyética normal con la captación de fosfato celular (47), la unión del fosfato a la CMF por interacción electrostática (92) y la pérdida renal de fósforo a causa de un efecto tóxico directo del hierro sobre las células de los túbulos renales (54,92).

Finalmente, se ha sugerido que el FGF23 podría jugar un papel etiológico en el desarrollo de la hipofosfatemia relacionada con hierro mediante una reducción de la reabsorción renal de fósforo e inhibiendo la  $1\alpha$  hidroxilación de la vit D(42,46). En nuestro estudio, la persistencia de la hipofosfatemia a las 12 semanas a pesar de la suspensión de la CMF, va en contra de los mecanismos propuestos sobre la captación extracelular de fosfato o la del fósforo unido a CMF. Una de las limitaciones de nuestro estudio, al tratarse de un análisis post-hoc, fue que no se determinó la fracción de reabsorción tubular de fósforo que podría habernos permitido confirmar el efecto de la CMF en el transporte renal de fosfato.

Se ha propuesto que el hierro ev provocaría hipofosfatemia a causa de un daño directo en el túbulo proximal, causando una disminución de la reabsorción tubular de fósforo, pero sin otras manifestaciones de toxicidad generalizada tubular proximal como glucosuria o aminoaciduria (46). Por lo general, la suspensión del hierro provoca una rápida normalización de dicho trastorno, lo que sugiere la implicación de otros mecanismos causantes de la hipofosfatemia aparte del daño tubular directo. Otro argumento que iría en contra del efecto tóxico directo del hierro sobre las células tubulares sería el alto peso molecular de algunas preparaciones de hierro como la polimaltosa (462000 daltons) o la CMF (150,000 daltons) que dificulta su excreción urinaria (93). Sin embargo, es posible que este daño tubular directo inducido por el tratamiento con hierro, sea más probable en pacientes con ERC y anemia tratados con altas dosis de hierro. De hecho, estudios en ratas sometidas a una nefrectomía parcial, el acúmulo de hierro en las células del túbulo proximal fue correlacionado con la proteinuria, el daño tubular y el deterioro del filtrado glomerular (87). Recientes estudios, han demostrado depósitos extensos de hierro en el mesangio y en los histiocitos intersticiales en pacientes con nefropatía diabética avanzada tratados con otro complejo de alto peso molecular, el ferumoxylol, mientras que no se observó en pacientes tratados con hierro dextrano (88). Parece ser que el potencial citotóxico del hierro ev dependería de la naturaleza de los polímeros carbohidratados utilizados (89).

### **CMF y FGF23**

En situaciones de déficit de hierro existe un estímulo en la expresión ósea de FGF23 mRNA y de la proteína FGF23. En sujetos normales con déficit de hierro existiría una mayor proteólisis y degradación del exceso de proteína condicionando que los niveles circulantes de FGF23 intacto y de fosfato se mantengan normales, pero comportaría una mayor presencia de fragmentos iniciales de FGF23 intacto que son detectados como niveles de FGF23 c- terminal elevados(94).

## Discusión

El raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante se caracteriza por exceso primario de FGF23 y una menor susceptibilidad a su degradación proteolítica. Un déficit de hierro en estos pacientes comportaría un incremento en la producción de FGF 23 intacta con hipofosforemia y osteomalacia.

La ERC se caracteriza por un exceso secundario de FGF23 con una degradación del FGF23 atenuada o impedida, una condición similar a la observada en el raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante. La presencia de un déficit de hierro en esta población se acompañaría de un fallo en la adecuación entre la proteólisis y degradación del FGF23 y la magnitud del incremento en la producción de FGF23, lo que comportaría un exceso en los niveles circulantes de FGF23 intacta que son detectados tanto por los ensayos que determinan la fracción intacta o la fracción c- terminal del FGF 23 (94).

La administración de ciertas preparaciones de hierro ev ( óxido férrico sacarato, hierro polimaltosa y CMF) pueden provocar hipofosfatemia por aumento de los niveles de FGF23 intacto. Se ha sugerido que estas preparaciones de hierro podrían interrumpir el balance entre la producción de FGF23 y su degradación proteolítica dentro de los osteocitos, al igual que se ha descrito en ratones con mutaciones–ADHR alimentados con dietas con diferentes concentraciones de hierro. La corrección del déficit de hierro con hierro dextrano provoca un descenso rápido de las concentraciones de los fragmentos del FGF 23 c terminal sin cambios en la fracción intacta, sugiriendo que se mantendría el equilibrio entre la producción y la degradación proteica en estos casos. Por el contrario, la utilización de otros preparados de hierro como la CMF podría alterar la relación entre la producción de FGF23 y la degradación proteolítica, con una reducción más marcada de esta última que comportaría niveles más elevados de FGF23 intacta e hipofosforemia(94).

# **Conclusiones**



## *Conclusiones*

Las conclusiones que se obtienen de estas tesis son las siguientes:

1. Tres cuartas partes de los pacientes con ERC y anemia ferropénica responden al tratamiento con CMF.
2. Los marcadores convencionales del estatus del hierro no son predictores de la respuesta a la CMF.
3. Una disminución de la actividad de la GPx eritrocitaria, un marcador de la actividad antioxidante de los hematíes, puede contribuir a la falta de respuesta al tratamiento con CMF.
4. El tratamiento con CMF no tiene efecto proinflamatorio ni modifica los niveles de moléculas de adhesión ICAM y VCAM.
5. La CMF provoca una disminución de los niveles séricos de fósforo en las tres cuartas partes de los pacientes. Esta reducción persiste a los tres meses del tratamiento.
6. La CMF induce una reducción de los niveles de la fracción c-terminal del FGF23 sin cambios en los otros parámetros de metabolismo óseo.
7. El descenso de los niveles del c- terminal FGF23 fue inferior en los pacientes tratados con vitamina D activa que en los no tratados, lo que sugiere que la vitamina D activa contribuiría a mantener más elevados los niveles de c-terminal FGF23 en estos pacientes.

# **Referencias**

1. Bright R: Cases and observations: Illustrative of renal disease accompanied by the secretion of albuminous urine. *Guys Hosp Rep* 1836; 1:338.
2. McClellan W AS, Bolton WK et al. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. *Curr Med Res Opin* 2004; 20:1501-10.
3. KDOQI National Kidney Foundation: KDOQI Clinical Practice Recommendations of Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(suppl 3):s11-s145.
4. Singh AK, Szczech L, Tang KL, Barnhart H, Sapp S, Wolfson M, Reddan D; CHOIR Investigators: Correction of anemia with epoetin alfa in chronic Kidney disease. *N Engl J Med* 2006; 355:2085-2098.
5. Pfeffer MA, Burdmann EA, Chen CY, Cooper ME, De Zeeuw D, Eckardt KU et al.; TREAT Investigators: A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic Kidney disease. *N Eng J Med* 2009; 362:2019-2032.
6. Bennett CL, Becker PS, Kraut EH, Samaras AT, West DP: Intersecting guidelines: Administering erythropoiesis-stimulating agents to chronic kidney disease patients with cancer. *Semin Dial* 2009; 22: 1-4.
7. Besarab A, Ayyoub F: Anemia in renal disease. In: *Diseases of the kidney and Urinary Tract*, edited by Schrier RW, 8th Ed., Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2007, pp 2406-2430.
8. Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008; 112: 219-230.
9. Hurrell R, Egli I. Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:1461S-7S.
10. De Domenico I, McVey W, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9:72-81.
11. Pan Y, Sader K, Powell J, et al. 3D morphology of the human hepatic ferritin mineral core: new evidence for a subunit structure revealed by single particle analysis of HAADF-STEM images. *J Struct Biol* 2009; 166:22-31
12. Astor BC, Muntner P, Levin A, Eustace JA, Coresh J. Association of kidney function with anemia: the Third Nacional Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Arch Intern Med* 2002; 162:1401.
13. Goodnough L, Nemeth E, Ganz T. detection, evaluation and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood* 2010; 116: 4754-61.
14. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352:1011-1023
15. Goodnough LT. Iron deficiency syndromes and iron-restricted erythropoiesis. *Transfusion* 2011.
16. Akins PT, Glenn S, Nemeth PM, Derdeyn CP. Carotid artery thrombus associated with severe iron deficiency anemia and thrombocytosis. *Stroke* 1996;27:1002-5
17. Hartfield DS, Lowry NJ, Keene DL, Yager JY. Iron deficiency: a cause of stroke in infants and children. *Pediatr Neurol* 1997; 16: 50-3.
18. De Caterina R, Basta G, Lazzerini G, Dell'Omo G, Petrucci R, Morale M. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2646-54.

19. Suliman M, Qureshi R, Heimbürger O, Lindholm B, Stenvinkel P. Soluble adhesion molecules in end-stage renal disease: a predictor of outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:1603-10.
20. Yuksel A, Kebapcilar L, Erdur E, Bozkaya G, Sari I, Alacacioglu A, et al. The effect of iron treatment on adhesion molecules in patients with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 2010; 137:317-323.
21. Yoo JH, Maeng HY, Sun YK, Kim YA, Park DW, Parks TS et al. Oxidative status in iron-deficiency anemia. *J Clin Lab Anal* 2009; 23:319-323.
22. Umegaki K, Hashimoto M, Yamasaki H, Fujii Y, Yoshimura M, Sugisawa A et al. Docosahexaenoic acid supplementation-increased oxidative damage in bone marrow DNA in aged rats and its relation to antioxidant vitamins. *Free Radic Res* 2001; 34:427-435.
23. Uchida E, Morimoto K, Kawasaki N, Izaki Y, Abdu said A, Hayakawa T. Effect of active oxygen radicals on protein and carbohydrate moieties of recombinant human erythropoietin. *Free Radic Res* 1997; 27:311-323.
24. Tonon J, Guarnier FA, Cecchini AL, Cecchini R. Anemia associated with extraerythrocytic oxidative stress damage mediated by neutrophil superoxide anion production in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis. *Pathophysiology* 2012; 19:261-268.
25. Popolo A, Autore G, Pinto A, Marzocco S. Oxidative stress in patients with cardiovascular disease and chronic renal failure. *Free Radic Res* 2013; 47:346-356.
26. Romeu M, Nogués R, Marcas L, Sánchez-Martos V, Mulero M, Martínez-Vea A et al. Evaluation of oxidative stress biomarkers in patients with chronic renal failure: a case control study. *BMC Res Notes* 2010; 3: 20.
27. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2013; 62:849-859
28. Stancu S, Barsan L, Stanciu A, Mirescu G. Can the response to iron therapy be predicted in anemic nondialysis patients with chronic kidney disease? *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:409-416.
29. Wish JB. Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1 ( Suppl 1):S4-S8.
30. Kalantar-Zadeh K, Rodriguez RA, Humphreys MH. Association between serum ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients. *Nephrol Dial transplant* 2004; 19: 141-149.
31. Stockman R. The treatment of chlorosis by iron and some other drugs. *Br Med J ( Clin Res Ed)* 1893;1:942-944
32. Auerbach M, Ballard H. Clinical use of intravenous iron: administration, efficacy, and safety. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010; 2010:338-347.
33. Agarwall R. Proinflammatory effects of iron sucrose in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006;69: 1259-63.
34. Malindretos P, Sarafidis PA, Rudenco I, Raptis V, Makedou K, Makedou A et al. Slow intravenous iron administration does not aggravate oxidative stress and inflammatory biomarkers during hemodialysis: a comparative study between iron sucrose and iron dextran. *Am J Nephrol* 2007; 27: 572-9.

35. Kumbasar A, Gursu M, Kaya C, Ozturk S, Ergen A, Kemik A, et al. The effect of different doses and types of intravenous iron on oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *J Nephrol* 2012; 25(5):825-32.
36. Martin- Malo A, Merino A, Carracedo J, Alvarez-Lara MA, Ojeda R, Soriano S, et al. Effect of intravenous iron on mononuclear cells during the haemodialysis session. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 2465-71.
37. Sonnweber T, Theurl I, Seifert M, Schroll A, Eder S, Mayer G, et al. Impact of iron treatment on immune effect or function and cellular iron status of circulating monocytes in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 977-87.
38. Kuo KL, Hung SC, Lee TS, Tarng DC. Iron sucrose accelerates early atherogenesis by increasing superoxide production and upregulating adhesion molecules in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2014 Nov; 25(11):2596-606.
39. Toblli JE, Cao G, Oliveri L, Angerosa M,. Comparision of the renal, cardiovascular and hepatic toxicity data of original intravenous iron compounds. *Nephrol Dial transplant* 2010; 25:3631-40.
40. Barton Pai A, Conner TA. Oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease: role of intravenous iron and vitamin D. *J Pharmacy Practice* 2008;21:214-24.
41. Toblli JE, Cao G, Oliveri L, Angerosa M. Assesment of extent of oxidative stress induced by intravenous ferumoxytol, ferric carboxymaltose, iron sucrose and iron dextran in a nonclinical model. *Arzneimittelforschung* 2011; 61: 399-410.
42. Shimizu Y, Tada Y, Yamauch M, Okamoto T, Suzuki H, Ito N et al. Hypophosphatemia induced by intravenous administration of saccharated ferric oxide. Another form of FGF23-related hypophosphatemia. *Bone* 2009; 45:814-816.
43. Shouten BJ, Hunt PJ, Livesy JH, Frampton CM, Soule SG. FGF23 elevation and hypophosphatemia after intravenous iron polymaltose: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94: 2332-2337.
44. Kalra PA, Bock K, Meldal M. Iron isomaltoside 1000: a new high dose option for parenteral iron therapy. *Port J Nephrol Hypert* 2012; 26:13-24.
45. Imamura K. Effects of intravenous administration of iron preparations on the metabolism of phosphorus. *Fukuoka Acta Med* 1984; 75:316-326.
46. Seid MH, Derman RJ, Baker JB, Bnach W, Goldberg C, Rogers F. Ferric carboxymaltose injection in the treatment of postpartum iron deficiency anemia: a randomized controlled clinical trial. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199:435-437.
47. Van Wyck DB, Mangione AM, Morrison J, Hadley PE, Jehle JA, Goodnough LT. Large-dose intravenous ferric carboxymaltose injection of iron deficiency anemia in heavy uterine bleeding: a randomized, controlled trial. *Transfusion* 2009; 49:2719-2728.
48. S.Hardy, X. Vandermergel. Intravenous Iron Administration and Hypophosphatemia in Clinical Practice. *Int J Rheumatol* 2015;468675
49. Sánchez González R, Ternavasio-de la Vega HG, Moralejo Alonso L, Inés Revuelta S, Fuertes Martín A. Intravenous ferric carboxymaltose-associated hypophosphatemia in patients with iron deficiency anemia. A common side effect. *Med Clin( Barc)* 2015;145(3):108-11

50. Lysen-Williamson KA, Keating GM. Ferric Carboxymaltose: a review of its use in iron-deficiency anaemia. *Drugs* 2009;71: 125-129.
51. Macdougall I. Iron supplementation in the non-dialysis chronic kidney disease (ND-CKD) patient: oral or intravenous? *Curr Med Res Opin* 2010;26: 473-482.
52. Covic A, Mircescu G. The safety and efficacy of intravenous ferric carboxymaltose in anaemic patients undergoing haemodialysis: a multi-center, open-label, clinical study. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 2722-2730.
53. Grimmelt AC, Cohen CD, Tehr T, Serra AL, Wüthrich. Safety and tolerability of ferric carboxymaltose (FCM) for treatment of iron deficiency in patients with chronic kidney disease and in kidney transplant recipients. *Clin Nephrol* 2009; 71:125-129.
54. Sato K, Shiraki M. Saccharated ferric oxide-induced osteomalacia in Japan: iron-induced osteopathy due to nephropathy. *Endocrine J* 1998; 45:431-439.
55. Gravesen E, Hifman- Bang J, Mace M L, Lewin E and Olgaard K. High dose intravenous iron, mineral homeostasis and intact FGF23 in normal and uremic rats. *BMC Nephrol* 2013;14: 281.
56. Onken JE, Bregman DB, Harrington RA, Morris D, Buerkert J et al. Ferric carboxymaltose in patients with iron-deficiency anemia and impaired renal function: the REPAIR-IDA trial. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(4):833-42.
57. Macdougall IC, Bock AH, Carrera F, Eckardt K-U, Gaillard C, Van Wyck D, Robert B et al. FIND- CKD: a randomized trial of intravenous ferric carboxymaltose versus oral iron in patients with chronic kidney disease and iron deficiency anaemia. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(11):2075-2084.
58. Toblli JE and Gennaro F. Switching Patients with Non-Dialysis Chronic Kidney Disease from oral iron to intravenous Ferric Carboximaltose: Effects on Erythropoiesis-Stimulating Agent Requirements, Costs, Hemoglobin and Iron status. *PLoS One*, 2015; 10(4):e0125528.
59. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186: 464-478.
60. Coto-Montes A, Hardeland R. Antioxidative effects of melatonin in *Drosophila Melanogaster*: antagonization of damage induced by the inhibition of catalase. *J Pineal Res* 1999;27: 154-158.
61. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972; 247: 3170-3175.
62. Cohen G, Dembiec D, Marcus J. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Anal Biochem* 1970;34:30-38
63. Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte Dw Jr. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem* 1990; 184: 193-199.
64. Gotloib L, Silverberg D, Shostak A. Iron deficiency is a very common cause of anemia in chronic kidney insufficiency and can often be corrected with iv iron. *J Nephrol* 2006;19: 161-167.
65. Mircescu G, Garneata L, Capusa C, Urse N. Intravenous iron supplementation for treatment of anaemia in pre-dialyzed chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 120-124.

66. Van Wyck DB, Roppolo M, Martinez CO, Mazey RM, McMurray S; United States Iron Sucrose ( Venofer) Clinical trial Groups. A randomized, controlled trial comparing iv iron sucrose to oral iron in anemic patients with nondialysis-dependent CKD. *Kidney Int.*2005; 68:2846-2856.
67. Spinowitz BS, Kausz AR, Baptista J, Noble SD, Sothinathan R, Bernardo MV, Brenner L, Pereira BJ. Ferumoxytol for treating iron deficiency anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2008;19: 1599-1605.
68. Qunibi WY, Martinez C, Smith M, Benjamin J, Mangione A, Roger SD. A randomized controlled trial comparing intravenous ferric carboxymaltose with oral iron for treatment of iron deficiency anaemia of non-dialysis-dependent chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:1599-1607.
69. Charytan C, Bernardo MV, Koch TA, Butcher A, Morris D, Bregman DB. Intravenous ferric carboxymaltose versus standard medical care in the treatment of iron deficiency anaemia in patients with chronic kidney disease: a randomized-controlled, multi-center study. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28:953-964.
70. Chonchol M, Lippi G, Montagnana M, Muggeo M, Targher G. Association of inflammation with anaemia in patients with chronic kidney disease not requiring chronic dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2879-2883.
71. Waggiallah H, Alzohairy M. The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level, and prevalence of anemia among diabetics. *N Am J Med Sci* 2011; 3:344-347.
72. Lang F, Lang E, Föller M. Physiology and pathophysiology of eryptosis. *Transfus Med Hemother* 2012;39:308-314.
73. Muñoz- Cortés M, Cabré C, Villa D, Vives JP, Arruche M, Soler J et al. Oxidative stress and other risk factors for White matter lesions in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2013; 80:161-167.
74. Kuchta A, Pacanis A, Kortas-Stempak B, Cwiklinska A et al. Estimation of oxidative stress markers in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2011; 34:12-19.
75. Puchades MJ, Sáez G, Muñoz MC, Gonzalez M, Torregrossa I, Juan I, Miguel a. Study of oxidative stress in patients with advanced renal disease and undergoing either hemodialysis or peritoneal dialysis. *Clin Nephrol* 2013; 80:177-186.
76. Galluci MT, Lubrano R, Meloni C, Morossetti M, Manca di Villahermosa S, Scoppi P et al. Red blood cells membrane lipid peroxidation and resistance to erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1999; 52:239-245.
77. Suliman HB, ali M, Piantadosi CA. Superoxide dismutase-3 promotes full expresión of the EPO response to hipoxia. *Blood* 2004; 104:43-50.
78. Nagababu E, Gulyani S, Earley CJ, Cutler RG, Mattson MP, Rifkind Jm. Iron – deficiency anaemia enhances red blood cell oxidative stress. *Free Radical Res* 2008;42: 824-829.
79. Sood MM, Oudit G, Mohammadi H, Huang H, Lok CE. Effects of parenteral iron on inflammation and the myocardium in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2008;12: 362-8.
80. Ross R. Atherosclerosis is and inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138:419-20.

81. Shen L, Lu G, Dong N, Jiang L, Ma Z, Ruan C. Von Willebrand factor , ADAMTS13 activity, TNF-x and their relationships in patients with chronic kidney disease. *Exp Ther Med* 2012; 3:530-4.
82. Ozkok A, Elcoiglu OC, Cukadar T, Bakan A, Sasak G, Atilgan KG et al. Low serum pancreatic enzyme levels predict mortality and are associated with malnutrition-inflammation-atherosclerosis syndrome in patients with chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2012.
83. Yadav AK, Lal A, J ha V. Cytotoxic CD28 / null) T Lymphocytes, Systemic inflammation and Atherosclerotic Risk in Patients with Chronic Kidney disease. *Nphrol Clin Pract* 2012;120: c185-c193.
84. Weiss G, Meusburger E, Radacher G, Garimoth K, Neyer U, Mayer G. Effect of iron treatment on circulating cytokine levels in ESRD patients receiving recombinand human erythropoietin. *Kidney Int* 2003; 64:572-8.
85. Bolaños L, González-Juanatey C, Testa A, Ranero R. Intravenous iron sucrose does not impair sonographic brachial vasodilation in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2008; 24:90-5.
86. Ozkurt S, Ozenc F, Degirmenci NA, Temiz G, Musmul A, Sahin G et al. Acute and subacute effects of EV iron sucrose on endothelial functions in hemodialysis patients. *Renal Fail* 2012; 34:1-6.
87. Wong BW, Meredith A, Lin D, McManus BM. The biological role of inflammation in atherosclerosis. *Can J Cardiol* 2012; 28:631-41.
88. Hot A, Lavocat F, Lenief V, Miossec P. Simvastatin inhibits the pro-inflammatory and pro-thrombotic effects of IL-17 and TNF- $\alpha$  on endothelial cells. *Ann Rheum Dis* 2012
89. Brili S, Tousoulis D, Antonoupoulos A, Antoniadis C, Htazis G, Bakogiannis C et al. Effects of atorvastatin on endothelial function and expression of proinflammatory cytokines and adhesion molecules in young subjects with successfully repaired coarctation of aorta. *Heart* 2012; 98:325-9.
90. Kalra Pa, Bock K, Meldal M. Iron isomaltoside 1000: a new high dose option for parenteral iron therapy. *Port J Nephrol Hypert* 2012; 26: 13-24.
91. Mohammed s, knoll S, Van Amberg A, Mennes PA. Cefotetan-induced haemolytic anemia causing severe hypophosphatemia. *Am J Hematol* 1994, 46:369- 370.
92. Jahn MR, Andreasen HB, Fütterer S, Nawroth T, Schünemann V, Kolb U et al. A comparative study of the physicochemical properties of iron isomaltoside 1000 (Monofer), a new intravenous iron preparations and its clinical implications. *Eur J Pharm Biopharm* 2011; 78:480-491.
93. Schoulten BJ, Doogue MP, Soule SG, Hunt Pj. Iron polymaltose-induced FGF23 elevation complicated by hypophosphatemic osteomalacia. *Ann Clin Biochem* 2009;46 :167-169.
94. Wolf M and White K. Coupling fibroblast growth factor 23 production and cleavage: iron deficiency, rickets, and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2014; 23:411-419.